绿原酸对仔猪生长性能、血清免疫球蛋白及肠道黏膜形态与消化吸收能力的影响[1]

王　宇　周选武　陈代文　余　冰　毛湘冰　郑　萍　虞　洁　罗玉衡　黄志清　罗钧秋

何　军*

(四川农业大学动物营养研究所，成都　611130)

摘　要：本试验旨在研究绿原酸(CA)对仔猪生长性能、血清免疫球蛋白及肠道黏膜形态与消化吸收能力的影响。试验选取 24 头初始体重相近[(9.45±0.20) kg]的健康“杜×长×大”三元断奶仔猪，随机分为 4 组：1)对照组，基础饲粮；2)CA250 组，基础饲粮+250 mg/kg CA；3)CA500 组，基础饲粮+ 500 mg/kg CA；4) CA1000 组，基础饲粮+1 000 mg/kg CA。每组 6 个重复，每个重复 1 头猪。试验期为 14 d。结果表明：1)各组间平均日增重(ADG)和平均日采食量(ADFI)均无显著差异(P>0.05)，CA1000 组料重比(F/G)显著低于对照组(P<0.05)。2)各组间血清 IgA 和 IgM 含量均无显著差异(P>0.05)，CA1000 组血清 IgG 含量较对照组和 CA250 组显著升高(P<0.05)。3)CA1000 组十二指肠绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度(V/C)值均显著高于对照组(P<0.05)，试验组十二指肠隐窝深度均显著低于对照组(P<0.05)；CA1000 组空肠绒毛高度和绒毛宽度显著高于对照组(P<0.05)；各组间回肠绒毛高度、绒毛宽度、隐窝深度及 V/C 值均无显著差异(P>0.05)。4)试验组十二指肠蔗糖酶活性均较对照组有所增加，但无显著差异(P>0.05)，麦芽糖酶活性均较对照组显著升高(P<0.05)；各组间空肠蔗糖酶活性无显著差异(P>0.05)，试验组空肠麦芽糖酶活性较对照组有所上升，但差异不显著(P>0.05)；各组间回肠蔗糖酶活性无显著差异(P>0.05)，CA1000 组回肠麦芽糖酶活性显著高于对照组(P<0.05)。5)各组间十二指肠钠－葡萄糖协同转运蛋白 1(*SGLT*1)和葡萄糖转运蛋白 2(*GLUT*2)基因相对表达量均无显著差异(P>0.05)；各组间空肠 *SGLT*1 基因相对表达量也无显著差异(P>0.05)，CA1000 组空肠 *GLUT*2 基因相对表达量显著高于对照组(P<0.05)；试验组回肠 *SGLT*1 基因相对表达量均较对照组有所增加，且 CA1000 组显著高于对照组(P<0.05)，但各组间回肠 *GLUT*2 基因相对表达量无显著差异(P>0.05)。综上所述，断奶仔猪饲粮中 CA 的适宜添加量为 1 000 mg/kg，添加该剂量 CA 能显著降低仔猪 F/G，增强免疫功能，改善小肠形态与消化吸收能力，从而提高断奶仔猪生长性能。

收稿日期：2017-09-11

项目基金：农业部公益性行业科研专项“饲用抗生素替代关键研究与示范”（201403047）

作者简介：王　宇（1991—），女，重庆沙坪坝人，硕士研究生，从事动物营养与饲料科学研究。E-mail：　346690181@qq.com

*通信作者：何　军，研究员，博士生导师，E-mail：　hejun8067@163.com

关键词：绿原酸；仔猪；生长性能；血清免疫球蛋白；肠道形态；消化吸收能力

中图分类号：S816.7

仔猪从断奶到70日龄的阶段为保育阶段，此阶段的仔猪存在着诸如消化机能尚不成熟、消化酶活性低、胃排空时间短、免疫系统存在缺陷及体温调节能力差等生理特点[1]。此外，仔猪还受到突然变化的饲粮结构的影响，由易消化吸收的液体母乳转变为固体饲料，饮食结构发生改变。因此，断奶会导致仔猪肠道发生组织形态学和生理学上的变化，如肠绒毛萎缩、隐窝增生、肠黏膜通透性增强等，从而会引起仔猪消化和吸收功能下降，免疫机能降低，最终发生腹泻和生长性能下降等[2]。大量研究表明，饲粮中添加抗生素、高铜、高锌等可促进仔猪生长，缓解仔猪断奶应激[3-4]。不过，虽然抗生素等添加物的大规模使用给养殖业带来了巨大的效益，但其产生的污染环境、残留及耐药性等弊端日益凸显。因此，在饲粮中取消抗生素及限制高铜、高锌使用的呼声日益高涨，新型绿色饲料添加物的研发也同时引起了人们的广泛关注。

绿原酸(chlorogenic acid，CA)系一种缩酚酸，源于多种植物，是植物在有氧呼吸过程中通过莽草酸循环途径，由咖啡酸和奎尼酸经过缩合反应而生成的一种次生代谢产物[5]。根据目前的研究报道，CA具有极其广泛的生物学活性，包括抗菌、抗炎、抗病毒及抗氧化等[6-8]。刘英等[9]研究发现，在三元杂交断奶仔猪饲粮中添加CA后，仔猪抗氧化能力得到增强。刘则学等[10]报道，在规模化猪场断饲养的奶仔猪饲料中添加CA后，料重比（F/G）显著降低，腹泻频率明显降低，每千克增重成本降低。这表明，在饲粮中添加CA有助于断奶仔猪的生长，提高经济效益。但是，目前关于添加CA在断奶仔猪的应用还是较少，且效果更是不完全明确。因此，本试验旨在研究饲粮添加不同剂量CA对断奶仔猪生长性能、血清免疫球蛋白含量以及肠道黏膜形态与消化吸收能力的影响，评估其能否促进断奶仔猪肠道健康，增强免疫功能，改善生长性能，为CA在猪养殖生产中的应用提供科学参考依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验动物为健康杜×长×大三元杂交阉割公猪，购于四川铁骑力士实业有限公司；试验所用CA为合成品（纯度99.5%），由四川君正生物饲料有限公司提供。

1.2　试验设计及饲粮

试验在四川农业大学动物营养研究所基地进行。选择平均体重为(9.45±0.20) kg的仔猪24头，依据体重一致原则随机分为4组，即对照组(饲喂基础饲粮)、CA250组(饲喂基础饲粮+250 mg/kg CA)、CA500组(饲喂基础饲粮+500 mg/kg CA)和CA1000组(饲喂基础饲粮+1

000 mg/kg CA)，每组 6 个重复，每个重复 1 头猪，单笼饲养。试验期为 14 d。每天分别于 08:00、12:00、16:00 及 20:00 饲喂，共 4 次，自由采食，充足饮水。仔猪饲粮参照 NRC(2012)猪营养需要进行配制，基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1　基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
普通玉米 Corn	26.50
膨化玉米 Extruded corn	25.45
大豆粕 Soybean meal	11.50
膨化大豆 Extruded soybean	12.50
大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate	5.00
鱼粉 Fish meal	4.00
乳清粉 Whey powder	7.00
豆油 Soybean oil	1.50
葡萄糖 Glucose	4.00
食盐 NaCl	0.30
石粉 Limestone	0.65
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.60
氯化胆碱 Chloride choline	0.10
L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys·HCl	0.30
DL-蛋氨酸 *DL*-Met	0.08
苏氨酸 Thr	0.06
色氨酸 Trp	0.02
维生素预混料 Vitamin premix1)	0.04
矿物元素预混料 Mineral premix1)	0.40
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels2)	
消化能 DE/(MJ/kg)	14.86

粗蛋白质 CP	19.8
钙 Ca	0.92
总磷 TP	0.55
有效磷 AP	0.37
总赖氨酸 Total Lys	1.41
总蛋氨酸 Total Met	0.47
总苏氨酸 Total Thr	0.79
总蛋氨酸+半胱氨酸 Total Met+Cys	0.75
总色氨酸 Total Trp	0.22

1)预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 6 000 IU,VD_3 400 IU,VE 10 IU,VK_3 2.0 mg,VB_1 0.80 mg,VB_2 6.4 mg,VB_6 2.4 mg,VB_{12} 12 μg,叶酸 folic acid 0.20 mg,烟酸 nicotinic acid 14 mg,*D*-泛酸 *D*-pantothenic acid 10 mg,Fe (as ferrous sulfate) 120 mg,Cu (as copper sulfate) 6 mg,Mn (as manganese sulfate) 40 mg,Zn (as zinc sulfate) 100 mg,I (as potassium sulfate) 0.30 mg,Se (as sodium sulfate) 0.30 mg。

2)消化能为计算值，其余为实测值。DE was a calculated value, while the others were measured values.

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生长性能

试验正式开始第 1 天早晨，仔猪空腹称重，试验期每日记录每头猪的采食情况，包括每日喂料量、剩余料量及浪费料量，第 14 天清晨再次对仔猪空腹称重。计算仔猪的平均日增重（ADG）、平均日采食量（ADFI）及 F/G。

1.3.2 血清免疫球蛋白含量

于试验第 14 天清晨空腹采集前腔静脉血 10 mL，静置 30 min 后，以 3 500 r/min 离心 10 min，取上层血清保存于－20 ℃，用于测定血清免疫球蛋白 A（IgA）、免疫球蛋白 G(IgG) 及免疫球蛋白 M(IgM) 含量。测定采用北京诚林生物科技有限公司的酶联免疫吸附试验 (ELISA)试剂盒，严格按照试剂盒说明书操作。

1.3.3 肠道黏膜形态

试验结束屠宰后，迅速分别取十二指肠、空肠及回肠中段各 1 cm 左右组织，用 4%多聚甲醛固定。常规制作石蜡包埋组织块，制作组织切片，厚度为 5 μm，用苏木精－伊红染色法染色并封片。于光学显微镜下观察拍照，随机选取 10 个视野测定绒毛高度和宽度以及隐

窝深度，并计算绒毛高度/隐窝深度(V/C)值。

1.3.4　肠黏膜二糖酶活性

屠宰后迅速分别取十二指肠、空肠及回肠肠段，剖开并弃去肠内容物，用生理盐水冲洗，滤纸吸干残余水分。用玻片刮取黏膜组织，分装于冻存管并暂存于－80 ℃。分别称取适量黏膜组织至匀浆器中，按黏膜重量以 1∶9 比例加入冷生理盐水，在冰浴条件下制成黏膜组织匀浆液。将匀浆液转移至离心管，4 ℃、3 500 r/min 离心 15 min，取上清液分装于 0.5 mL 离心管中，－20 ℃保存，用于蔗糖酶及麦芽糖酶这 2 种二糖酶活性的测定。测定采用南京建成生物工程研究所试剂盒，严格按说明书操作。

1.3.5　肠道葡萄糖转运蛋白基因表达

采用实时荧光定量 PCR 法检测肠道钠－葡萄糖协同转运蛋白 1(*SGLT*1)、葡萄糖转运蛋白 2(*GLUT*2)这 2 种葡萄糖转运蛋白的基因表达，所用试剂盒购自天根生化科技有限公司。主要方法如下：取十二指肠、空肠及回肠黏膜组织，用 Trizol 试剂提取黏膜总 RNA，核酸检测仪测定吸光度（OD）$_{260}$、OD_{280} 及 OD_{320} 值，并计算样品 RNA 浓度与纯度。cDNA 合成按照试剂盒说明书进行，2 种目的基因与内参基因β－肌动蛋白（β-actin）的引物序列详见表 2，SYBR Green 实时荧光定量 PCR 体系按试剂盒说明书操作。PCR 反应条件为：95 ℃，1 min；95 ℃，5 s；按表 2 中的退火温度，35 s；共 45 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 2 种目的基因的相对表达量。

表 2　实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 2　Primer sequences for quantitative real-time PCR

基因 Genes	引物序列 Primer sequences（5'—3'）	退火温度 Tm/℃	产物大小 Product size/bp
钠-葡萄糖协同转运蛋白 1 *SGLT*1	F:TGTATTTGAGGCCAGTGTCA R:GGGCACCACAACTCTTAAA	55.7	198
葡萄糖转运蛋白 2 *GLUT*2	F:TGGAATCAGCCAACCTGTTT R:ACAAGTCCCACCACATGA	55.7	165
β-肌动蛋白 β-actin	F:TCTGGCACCACACCTTCT R:TGATCTGGGTCATCTTCTCAC	55.7	114

1.4　数据统计分析

试验数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），用 Duncan 氏法进行多重比较，以 P<0.05 为差异显著，结果以平均值±标准差表示。

2 结 果

2.1 CA 对仔猪生长性能的影响

由表 3 可知，各组间 ADG 及 ADFI 均无显著差异(P>0.05)，但 CA1000 组 ADG 及 ADFI 较对照组略有上升；CA250 组和 CA500 组 F/G 与对照组无显著差异(P>0.05)，但 CA1000 组 F/G 显著低于对照组(P<0.05)。

表 3 CA 对仔猪生长性能的影响

Table 3 Effects of CA on growth performance of piglets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	CA250	CA500	CA1000
平均日增重 ADG/kg	0.41±0.01	0.44±0.06	0.45±0.01	0.47±0.01
平均日采食量 ADFI/kg	0.67±0.07	0.69±0.08	0.68±0.02	0.70±0.04
料重比 F/G	1.58±0.04^{a}	1.53±0.03^{ab}	1.53±0.01^{ab}	1.44±0.02^{b}

同行数据肩标无字母或相同小写字母表示差异不显著(P＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(P＜0.05)，不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with different capital letter superscripts mean extremely significant difference (P<0.01). The same as below.

2.2 CA 对仔猪血清免疫球蛋白含量的影响

由表 4 可知，各组间血清 IgA 含量均无显著差异(P>0.05)，但 CA1000 组较对照组略有升高；CA250 组和 CA500 组血清 IgG 含量与对照组无显著差异(P>0.05)，但 CA1000 组血清 IgG 含量显著高于对照组和 CA250 组(P<0.05)；各组间血清 IgM 含量均无显著差异(P>0.05)。

表 4 CA 对仔猪血清免疫球蛋白含量的影响

Table 4 Effects of CA on serum immunoglobulin content of piglets g/L

项目 Items	组别 Groups			
	对照	CA250	CA500	CA1000

	Control			
免疫球蛋白 A IgA	0.81±0.07	0.81±0.06	0.83±0.04	0.86±0.06
免疫球蛋白 G IgG	2.46±0.26[a]	2.41±0.20[a]	2.49±0.40[ab]	2.75±0.53[b]
免疫球蛋白 M IgM	0.21±0.04	0.22±0.04	0.17±0.03	0.18±0.03

2.3　CA 对仔猪肠道黏膜形态的影响

由表 5 可知，在十二指肠，试验组绒毛高度均较对照组增加，其中 CA1000 组显著高于对照组(P<0.05)；试验组绒毛宽度较对照组有增加趋势(P>0.05)；试验组隐窝深度显著低于对照组(P<0.05)；试验组 V/C 值均较对照组增加，其中 CA500 组和 CA1000 组显著高于对照组(P<0.05)，且 2 组间差异显著(P<0.05)。在空肠，CA1000 组空肠绒毛高度和绒毛宽度均较对照组显著增加(P<0.05)；各组间空肠隐窝深度及 V/C 值均无显著差异(P>0.05)。在回肠，各组间绒毛高度、绒毛宽度、隐窝深度及 V/C 值均无显著差异(P>0.05)。

表 5　CA 对仔猪肠道黏膜形态的影响

Table 5　Effects of CA on intestinal mucosa morphology of piglets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	CA250	CA500	CA1000
十二指肠 Duodenum				
绒毛高度 Villus height/μm	308.46±14.87[a]	317.56±12.67[a]	337.93±21.65[a]	433.54±12.99[b]
绒毛宽度 Villus width/μm	112.09±4.47	111.89±5.83	122.51±4.22	125.32±5.16
隐窝深度 Crypt depth/μm	217.33±4.24[a]	191.37±7.23[b]	182.89±6.80[b]	174.76±6.04[b]
绒毛高度/隐窝深度 V/C	1.42±0.07[a]	1.66±0.04[ab]	1.84±0.06[b]	2.49±0.14[c]
空肠 Jejunum				
绒毛高度 Villus height/μm	212.47±13.44[a]	219.62±13.82[ab]	229.65±7.10[ab]	246.46±2.37[b]
绒毛宽度 Villus width/μm	109.17±3.41[a]	107.63±1.14[a]	112.26±3.36[ab]	117.82±0.85[b]
隐窝深度 Crypt depth/μm	177.11±6.21	185.04±5.74	174.94±9.12	172.09±12.84
绒毛高度/隐窝深度 V/C	1.29±0.11	1.20±0.11	1.33±0.09	1.46±0.13
回肠 Ileum				
绒毛高度 Villus height/μm	234.04±4.05	232.91±8.91	234.45±11.73	246.92±9.88
绒毛宽度 Villus width/μm	95.71±4.00	97.38±5.40	99.33±3.94	102.93±5.15

隐窝深度 Crypt depth/μm	133.96±1.50	133.66±6.15	133.69±4.71	133.78±2.94
绒毛高度/隐窝深度 V/C	1.74±0.04	1.76±0.15	1.77±0.14	1.86±0.10

2.4 CA 对仔猪肠黏膜二糖酶活性的影响

由表 6 可知，在十二指肠，试验组蔗糖酶活性均较对照组有所增加，但无显著差异(P>0.05)；试验组麦芽糖酶活性均较对照组显著升高(P<0.05)，且 CA250 组与 CA1000 组间差异显著(P<0.05)。在空肠中，各组间蔗糖酶活性无显著差异(P>0.05)；试验组麦芽糖酶活性较对照组有所上升，但组间差异不显著(P>0.05)。在回肠中，各组间蔗糖酶活性无显著差异(P>0.05)；CA500 组麦芽糖酶活性显著高于 CA250 组(P<0.05)，CA1000 组麦芽糖酶活性较对照组及 CA250 组显著增加(P<0.05)。

表 6 CA 对仔猪肠道黏膜二糖酶活性的影响

Table 6 Effects of CA on intestinal mucosa disaccharidase activity of piglets U/g prot

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	CA250	CA500	CA1000
十二指肠 Duodenum				
蔗糖酶 Sucrase	27.53±3.31	36.94±4.21	39.52±3.77	39.11±3.92
麦芽糖酶 Maltase	71.58±2.84[a]	110.61±2.97[b]	135.14±9.34[bc]	143.25±12.81[c]
空肠 Jejunum				
蔗糖酶 Sucrase	243.73±9.38	244.61±37.60	241.00±22.85	239.26±36.82
麦芽糖酶 Maltase	270.35±24.45	271.82±36.46	284.56±16.65	302.54±50.54
回肠 Ileum				
蔗糖酶 Sucrase	90.70±0.86	80.80±8.76	87.10±12.80	88.49±4.98
麦芽糖酶 Maltase	115.27±13.62[ab]	103.04±3.68[a]	147.89±15.23[bc]	177.93±13.07[c]

2.5 CA 对仔猪肠道葡萄糖转运蛋白基因表达的影响

由表 7 可知，各组间十二指肠 *SGLT*1 及 *GLUT*2 基因相对表达量均无显著差异(P>0.05)。各组间空肠 *SGLT*1 基因相对表达量无显著差异(P>0.05)；但空肠 *GLUT*2 基因相对表达量有差异，CA250 组 *GLUT*2 基因相对表达量较对照组显著降低(P<0.05)，CA1000 组 *GLUT*2 基因相对表达量较对照组显著增加(P<0.05)。试验组回肠 *SGLT*1 基因相对表达量均较对照组有所增加，且 CA1000 组显著高于 C 组(P<0.05)，但各组间 *GLUT*2 基因相对表达量无显著差

异(P>0.05)。

表 7　CA 对仔猪肠道葡萄糖转运蛋白基因表达的影响

Table 7　Effects of CA on expression of intestinal mucosa glucose transporter genes of piglets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	CA250	CA500	CA1000
十二指肠 Duodenum				
钠–葡萄糖协同转运蛋白 1 *SGLT*1	1.00±0.17	1.10±0.24	1.13±0.09	1.16±0.09
葡萄糖转运蛋白 2 *GLUT*2	1.00±0.09	1.14±0.25	1.02±0.06	0.84±0.10
空肠 Jejunum				
钠–葡萄糖协同转运蛋白 1 *SGLT*1	1.00±0.06	0.99±0.05	1.06±0.20	1.16±0.02
葡萄糖转运蛋白 2 *GLUT*2	1.00±0.12^{a}	0.53±0.03^{b}	0.74±0.06^{ab}	1.28±0.10^{c}
回肠 Ileum				
钠–葡萄糖协同转运蛋白 1 *SGLT*1	1.00±0.04^{a}	1.24±0.16^{ab}	1.23±0.19^{ab}	1.45±0.04^{b}
葡萄糖转运蛋白 2 *GLUT*2	1.00±0.14	1.01±0.22	0.97±0.12	0.73±0.11

3　讨　论

3.1　CA 对仔猪生长性能的影响

根据目前的研究报道，饲粮中添加 CA 在改善水产动物生长性能方面具有较好的效果。张纯等[11]的研究表明，在饲粮中添加 200 mg/kg 的 CA 能显著促进建鲤生长，提高增重率。李乃顺等[12]发现，草鱼鱼种摄食含 0.04% CA 的饲料后，增重率提高 16.4%，饲料系数降低 13.1%。温安祥等[13]报道，添加 200~400 mg/kg 的 CA 能改善中华鳖的生长性能。但也有添加 CA 无助于改善生长性能的报道，例如 Wang 等[14]的研究表明，饲粮中添加 100~400 mg/kg CA 对凡纳滨对虾生长性能并无显著影响。目前，关于 CA 对断奶仔猪生长性能影响的研究已有一些报道，但效果尚不肯定。刘英等[9]报道，用添加 300 mg/kg CA 饲粮饲养断奶仔猪 4 周，对 ADG、ADFI 及饲料转化率均无显著影响。赖星[15]近期的研究发现，饲粮中添加 CA 显著提高断奶仔猪的 ADG 和 ADFI，明显降低 F/G。本试验结果表明，添加 CA 虽然对断奶仔猪 ADG 和 ADFI 无明显影响，却能显著降低 F/G。刘则学等[10]利用规模化猪场进行的大样本(每组 140 头猪)研究结果也表明，添加 CA 对断奶仔猪 ADG 与 ADFI 无明显影响，但显著降低 F/G，这与本试验的结果基本一致。CA 促进仔猪等动物生长的作用机理目前尚不完

全清楚，可能是：1）CA 具有肾上腺素样作用，能提高中枢神经兴奋性及消化道收缩能力，促进营养物质的吸收利用[16]；2）CA 具有抗菌、抗病毒及抗炎症等作用[7-8]，利于动物机体抵御病原微生物的侵袭，保持良好的生长状态；3）CA 具有抗氧化及清除体内自由基的作用[6-8]，降低机体氧化应激水平，维持正常的氧化平衡状态，从而利于动物健康生长。

3.2　CA 对仔猪血清免疫球蛋白含量的影响

CA 已被证实具有多种生物学活性，包括抗炎及其密切关联的提高机体免疫力。张建华等[17]报道，CA 可显著增强小鼠的特异性免疫功能，细胞免疫与体液免疫能力均得到显著提高。此外，CA 还能增强动物的非特异性免疫功能。张纯等[11]发现，在饲粮中添加 CA 可有效提高建鲤白细胞吞噬能力及血清溶菌酶活性，从而增强建鲤的非特异性免疫力。李乃顺等[12]也报道，在基础饲粮中添加 CA 能改善草鱼鱼种的溶菌酶等非特异性免疫指标。然而，目前关于 CA 对动物尤其是仔猪免疫球蛋白的影响所知较少。Gong 等[18]的研究表明，CA 能增加小鼠体内免疫球蛋白 E(IgE)及 IgG 含量，并促进肠系膜淋巴结产生白细胞介素－4(IL-4)。Lin 等[19]的荟萃分析资料显示，CA 能显著提高血清 IgG 含量，增加 IgG1 抗体形成细胞数量。但王多伽等[20]报道，饲粮中添加 CA 对獭兔血清 IgG 含量并无明显影响，这可能与动物种类及 CA 剂量等因素有关。本试验结果表明，饲粮中添加 CA 对仔猪血清 IgA 及 IgM 含量无显著影响，但高剂量 CA 添加能够显著增加仔猪血清 IgG 含量。众所周知，IgG 是血清中含量最高的免疫球蛋白，是介导体液免疫的主要抗体，在抗菌与抗病毒等免疫功能中扮演重要角色。本试验中仔猪血清 IgG 含量的提高，表明饲粮中添加 CA 在一定程度上能提高仔猪免疫功能。CA 增强动物免疫功能的作用机理可能是：直接促进机体免疫器官如胸腺、脾脏等的生长发育[15]，从而提高机体免疫力；通过激活钙调神经磷酸酶介导的信号通路，增强巨噬细胞等的吞噬功能[21]；促进机体 IL-4 的合成与分泌[18]，IL-4 增加一方面利于 B 淋巴细胞的增殖分化，提升免疫球蛋白产生能力，另一方面促进 $CD4^+$ T 淋巴细胞分化为 II 型辅助 T 淋巴细胞，从而增强机体的体液免疫与细胞免疫能力。

3.3　CA 对仔猪肠道黏膜形态的影响

小肠最基本的功能是肠黏膜对营养物质的消化吸收，其功能强弱与肠黏膜组织结构的绒毛高度、隐窝深度以及 V/C 密切相关。Montagne 等[22]报道，肠黏膜的绒毛变长、隐窝变浅或 V/C 值增加，通常表示消化吸收功能增强，反之则代表消化吸收功能降低。迄今为止，关于 CA 对动物肠道黏膜形态影响的研究极少。Ruan 等[23]的研究发现，在 SD 大鼠饲粮中添加 CA 饲喂断奶大鼠 15 d 后，大鼠空肠绒毛高度显著高于对照大鼠，空肠、回肠隐窝深度均显著低于对照大鼠，空肠、回肠 V/C 值均显著高于对照大鼠。提示，在饲粮中添加 CA

能改善断奶大鼠肠黏膜形态。在本试验中，用分别添加 3 种不同水平 CA 的饲粮喂养断奶仔猪 14 d 后，十二指肠和空肠黏膜的绒毛高度、绒毛宽度及 V/C 值较对照组增加，而隐窝深度较对照组降低，并与添加 CA 的水平有关，添加高剂量 CA 引起的变化更显著。提示添加 CA 有利于断奶仔猪肠黏膜形态的改善；此外，绒毛高度与宽度的增加势必提升肠黏膜的有效吸收面积，促进吸收功能，这也与上述 Ruan 等[23]在断奶大鼠的研究结果基本一致。由于目前有关 CA 对肠黏膜形态影响的研究极少，尚不清楚 CA 改善肠黏膜形态的作用机理。推测一方面与 CA 的抗氧化作用有关[6-8]，通过降低氧化应激水平而避免肠道受氧化损伤，以维护肠黏膜形态的完整性；另一方面 CA 能增加肠道紧密连接蛋白表达，降低其通透性[23]，从而维护肠道屏障及黏膜形态；此外，CA 能有效地维持肠道微生物群落的多样性，保护肠道微生态平衡[15]，这也利于肠黏膜的生长。

3.4　CA 对仔猪肠道消化吸收能力的影响

对包括糖在内的营养物质的消化吸收是动物生命活动的基础。动物饲粮的可消化碳水化合物主要包括多糖、寡糖、二糖和单糖，多糖与寡糖必须由消化酶将其转变为二糖，再由肠黏膜的二糖酶水解成葡萄糖等单糖后，才能被吸收利用。因此，肠黏膜麦芽糖酶、蔗糖酶等二糖酶是糖类营养物质最终消化的关键消化酶，被认为是肠道功能发育成熟的标志之一[24]。关于 CA 对动物肠黏膜二糖酶的影响，目前尚未见相关报道。本试验中，饲粮中添加 CA 后，仔猪十二指肠蔗糖酶活性较对照有增加趋势，麦芽糖酶活性显著高于对照组；空肠麦芽糖酶较对照组有上升；回肠麦芽糖酶活性显著高于对照组。这表明，CA 能促进仔猪小肠黏膜二糖酶活性，有助于糖类营养物质被消化为单糖。

单糖中绝大部分为葡萄糖，它在小肠内的吸收与转运主要是通过位于肠黏膜上皮细胞上的 2 类跨膜葡萄糖转运载体——SGLT1 及 GLUT2 来共同完成的。SGLT1 与钠泵偶联，以耗能的主动转运方式，逆浓度梯度转运吸收肠腔内葡萄糖进入肠黏膜上皮细胞；此外，它还可通过激活依赖蛋白激酶 C 的信号通路调节 GLUT2 对葡萄糖的转运[25]。GLUT2 则是以不耗能的被动转运方式，顺浓度梯度将肠黏膜上皮细胞内的葡萄糖转运入血液。因此，肠黏膜上皮细胞的 SGLT1 与 GLUT2 这 2 种葡萄糖转运载体在葡萄糖的吸收过程中起着极其重要的作用。目前关于 CA 对 SGLT1 与 GLUT2 影响的研究极少，仅在高脂饲喂动物有零星报道。梁秀慈等[26]与彭冰洁等[27]分别报道，CA 能引起高脂乳剂饲喂昆明小鼠及 SD 大鼠骨骼肌 *GLUT*4 mRNA 表达显著增加。Peng 等[28]的研究表明，CA 降低高脂饲喂大鼠空肠 *SGLT*1 mRNA 与蛋白表达，对十二指肠、回肠及结肠 SGLT1 无明显影响，增加十二指肠、空肠及回肠 GLUT2 mRNA 表达。本试验结果表明，高剂量 CA 能显著增加仔猪空肠 *GLUT*2 及回

肠 *SGLT*1 mRNA 表达，提示饲粮中添加高剂量 CA 对小肠葡萄糖的吸收与转运有一定的促进作用。关于 CA 增加肠黏膜葡萄糖转运载体表达的作用机理目前尚不清楚，我们推测可能与 CA 促进肠黏膜绒毛生长有关。因为 Dong 等[29]发现，小肠葡萄糖转运载体的基因表达与绒毛高度成正相关，绒毛越长，表达量越多。也可能还有其他作用机理，这有待进一步研究明确。

4 结 论

综合本试验条件下的各指标，建议断奶仔猪饲粮中添加 CA 的适宜添加量为 1 000 mg/kg。添加该剂量 CA 能显著降低仔猪 F/G，增强免疫功能，改善小肠形态与消化吸收能力，从而提高断奶仔猪生长性能。

参考文献：

[1] 陈彩芬.保育仔猪的饲养管理[J].中国畜牧兽医文摘,2015,31(12):85.

[2] 王向荣,贺建华,戴求仲,等.早期断奶应激对仔猪肠黏膜屏障功能的影响及其监测与修复[J].动物营养学报,2014,26(11):3197–3202.

[3] 周维仁,邹思湘,李松岩,等.高铜高锌日粮在猪体内的代谢规律及对土壤污染的评估[J].江苏农业科学,2011,39(2):290–294.

[4] 王修启,范宏博,黎相广.断奶仔猪营养减排技术研究进展[J].饲料工业,2015,36(18):1–5.

[5] GONTHIER M P,VERNY M A,BESSON C,et al.Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats[J].The Journal of Nutrition,2003,133(6):1853–1859.

[6] ZHOU Y,RUAN Z,ZHOU L L,et al.Chlorogenic acid ameliorates endotoxin-induced liver injury by promoting mitochondrial oxidative phosphorylation[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2016,469(4):1083–1089.

[7] LIANG N L,KITTS D D.Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions[J].Nutrients,2016,8(1):16.

[8] 王文龙,文超越,郭秋平,等.绿原酸的生物活性及其作用机制[J].动物营养学报,2017,29(7):2220–2227.

[9] 刘英,王之盛,周安国.橙皮苷、绿原酸对断奶仔猪生长、抗氧化和免疫机能的影响[J].中国兽医学报,2009,29(9):1233–1236.

[10] 刘则学,彭首策,沈峰,等.植物提取物绿原酸对仔猪生长性能和经济效益的影响研究[J].养猪,2013(2):43–44.

[11] 张纯,温安祥.绿原酸对建鲤生长、非特异性免疫功能和抗氧化能力的影响[J].四川农业大学学报,2012,30(1):92–97.

[12] 李乃顺,冷向军,李小勤,等.绿原酸对草鱼鱼种生长、非特异性免疫和肉质的影响[J].水生生物学报,2014,38(4):619–626.

[13] 温安祥,舒辉,肖洋.绿原酸对中华鳖生产性能及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2010,22(3):729–733.

[14] WANG Y,LI Z,LI J,et al.Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance,antioxidant capacity of white shrimp Litopenaeus vannamei under normal condition and combined stress of low-salinity and nitrite[J].Fish & Shellfish Immunology,2015,43(2):337–345.

[15] 赖星.日粮添加橙皮苷和绿原酸对断奶仔猪生长性能与肠道健康的影响[D].硕士学位论文.重庆:西南大学,2016:33–34.

[16] GILL C.Herbs and plant extracts as growth enhancers[J].Feed International,1999,20(4):20–23.

[17] 张建华,姚素波,刘洁,等.绿原酸对小鼠免疫功能的影响[J].华西药学杂志,2009,24(4):343–344.

[18] GONG J,LIU F T,CHEN S S.Polyphenolic antioxidants enhance IgE production[J].Immunological Investigations,2004,33(3):295–307.

[19] LIN M B,GONG W,CHEN Q,et al.Evaluation of the potential sensitization of chlorogenic acid:a meta-analysis[J].Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,2013,2013:208467.

[20] 王多伽,畅丽芳,迟玉杨,等.日粮中添加不同水平绿原酸对獭兔血清免疫指标的影响[J].饲料研究,2013(3):33–36.

[21] WU H Z,LUO J,YIN Y X,et al.Effects of chlorogenic acid,an active compound activating calcineurin,purified from Flos Lonicerae on macrophage[J].Acta Pharmacologica Sinica,2004,25(12):1685–1689.

[22] MONTAGNE L,PLUSKE J R,HAMPSON D J.A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa,and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals[J].Animal Feed Science and Technology,2003,108(1/2/3/4):95–117.

[23] RUAN Z,LIU S Q,ZHOU Y,et al.Chlorogenic acid decreases intestinal permeability and

increases expression of intestinal tight junction proteins in weaned rats challenged with LPS[J].PLoS One,2014,9(6):e97815.

[24] HOOTON D,LENTLE R,MONRO J,et al.The Secretion and action of brush border enzymes in the mammalian small intestine[C]//NILIUS B,GUDERMANN T,JAHN R,et al.Reviews of Physiology,Biochemistry and Pharmacology.Cham:Springer,2015,168:59–118.

[25] KELLETT G L.The facilitated component of intestinal glucose absorption[J].The Journal of Physiology,2001,531(3):585–595.

[26] 梁秀慈,孟文,钟英丽,等.绿原酸对高脂乳诱导小鼠胰岛素抵抗形成的影响[J].中国药理学通报,2013,29(5):654–658.

[27] 彭冰洁,肖丽娟,伍翔,等.绿原酸对高脂饲喂大鼠骨骼肌糖代谢的影响[J].中草药,2015,46(17):2580–2585.

[28] PENG B J,ZHU Q,ZHONG Y L,et al.Chlorogenic acid maintains glucose homeostasis through modulating the expression of *SGLT*-1,*GLUT*-2,and *PLG* in different intestinal segments of Sprague-Dawley rats fed a high-fat diet[J].Biomedical and Environmental Sciences,2015,28(12):894–903.

[29] DONG R,SRAI S K,DEBNAM E,et al.Transcriptional and translational control over sodium-glucose-linked transporter (*SGLT*1) gene expression in adult rat small intestine[J].FEBS Lett,1997,406(1/2):79–82.

Effects of Chlorogenic Acid on Growth Performance, Serum Immunoglobulins, Intestinal Mucosa Morphology, Digestive and Absorptive Capacity of Piglets

WANG Yu ZHOU Xuanwu CHEN Daiwen YU Bing MAO Xiangbing ZHENG Ping

YU Jie LUO Yuheng HUANG Zhiqing LUO Junqiu HE Jun*

(*Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Chendu* 611130, *China*)

Abstract: This study was aimed to investigate the effects of chlorogenic acid (CA) on growth performance, serum immunoglobulins, intestinal mucosa morphology, digestive and absorptive capacity of piglets. Twenty-four healthy Duroc×Landrace×Yorkshire weaned piglets with similar body weight of (9.45±0.20) kg were randomly allocated to 4 groups: 1) control group, be given a basal diet; 2) CA250 group, be given the basal diet with 250 mg/kg CA; 3) CA500 group, be given the basal diet with 500 mg/kg CA; 4) CA1000 group, be given the basal diet with 1 000 mg/kg CA.

Each group was represented by 6 replicates with 1 piglet per replicate. The experiment lasted for 14 days. The results showed as follows: 1) there were no significant differences in average daily gain and average daily feed intake among all groups (P>0.05). The feed to gain ratio (F/G) in CA1000 group was significantly lower than that in control group (P<0.05). 2) No significant differences in serum contents of immunoglobulin A (IgA) and immunoglobulin (IgM) were found among all groups (P>0.05). The serum immunoglobulin G (IgG) content in CA1000 group was significantly higher than that in control group and CA250 group (P<0.05). 3) The duodenal villus height and villus to crypt ratio (V/C) in CA1000 group were significantly higher than those in control group (P<0.05). The duodenal crypt depth in experimental groups was significantly lower than that in control group (P<0.05). The villus height and width of jejunum in CA1000 group were significantly higher than those in control group (P<0.05). There were no significant differences in villus height, villus width, crypt depth, and V/C of ileum among all groups (P>0.05). 4) The duodenal sucrase activity in experimental groups was increased, but showed no significant differences compared with control group (P>0.05). The duodenal maltase activity in experimental groups was significantly higher than that in control group (P<0.05). There were no significant differences in jejunal sucrase activity among all groups (P>0.05). The jejunal maltase activity in experimental groups was increased, but showed no significant differences compared with control group (P>0.05). There were no significant differences in ileal sucrase activity among all groups (P>0.05). The ileal maltase activity in CA1000 group was significantly higher than that in control group (P<0.05). 5) There were no significant differences in the relative expression of sodium-dependent glucose transporters 1 (*SGLT*1) and glucose transporter 2 (*GLUT*2) genes in duodenum among all groups (P>0.05). No significant differences in *SGLT*1 relative expression in jejunum were found among all groups (P>0.05). The *GLUT*2 relative expression in jejunum in CA1000 group was significantly higher than that in control group (P<0.05). The *SGLT*1 relative expression in ileum in experimental groups was increased compared with control group, and the *SGLT*1 relative expression in ileum in CA1000 group was significantly higher than that in control group (P<0.05). There were no significant differences in the *GLUT*2 relative expression in duodenum among all groups (P>0.05). In conclusion, it is suggested that the amount of CA supplementation in piglet diet is 1 000 mg/kg. The suggested amount of CA can reduce the F/G significantly, enhance the immune function, improve the intestinal mucosa morphology, promote

the digestive and absorptive capacity, which in turn raise the growth performance of weaned piglets.

Key words: chlorogenic acid; piglet; growth performance; serum immunoglobulin; intestinal morphology; digestive and absorptive capacity

*Corresponding author, professor, E-mail: hejun8067@163.com （责任编辑　田艳明）